

Подходы к прогнозированию аффинности лигандов 18 кДа транслокаторного белка TSPO с целью создания молекул с нейропсихотропной активностью

Барaboшкин Н.М., Пантiлеев А.С., Мокров Г.В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Выполнено прогнозирование аффинности к 18 кДа транслокаторному белку (TSPO) соединений в ряду 1-арилпирроло[1,2-а]пирозин-3-карбоксамидов методами QSAR (Quantitative structure–activity relationship) и молекулярного докинга. Были созданы 9 моделей из комбинации трёх методов машинного обучения (ASNN, FSMLR, PLS) с различным набором 2D фрагментарных дескрипторов (OEState, ISIDA, GSfrag). Для валидации модели использовался 5-кратный перекрёстный контроль. Для молекулярного докинга использовались следующие программы: для построения 3D моделей лигандов программный пакет Marvin от ChemAxon, подготовка белка 2MGY (Protein Data Bank) выполнялась в AutodockTools, а для установления аффинности Autodock 4.2. дополнительно было проведено исследование гидрофобного соответствия в веб-сервисе PLATINUM. В результате данных исследований были выявлены наиболее перспективные лиганды TSPO. Произведён анализ связи структура-аффинность.

Ключевые слова: 18 кДа транслокаторный белок TSPO; молекулярный докинг; QSAR; нейропсихотропная активность

Для цитирования:

Барaboшкин Н.М., Пантiлеев А.С., Мокров Г.В. Подходы к прогнозированию аффинности лигандов 18 кДа транслокаторного белка TSPO с целью создания молекул с нейропсихотропной активностью // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 1. – С. 22–30.
DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10036.

Approaches to predict ligands affinity towards translocator protein TSPO 18 kDa in order to create molecules possessing neuropsychotropic activity

Baraboshkin N.M., Pantileev A.S., Mokrov G.V.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. Predict of anxiolytic activity and affinity for the translocator protein (TSPO), compounds in the 1-arylpyrrolo[1,2-a]pyrazine-3-carboxamide series by QSAR (Quantitative structure–activity relationship) and molecular docking was carried out. 9 Models were created from a combination of three methods of machine learning (ASNN, FSMLR, PLS) with a different set of 2D fragmented descriptors (OEState, ISIDA, GSfrag). For the validation of the model, 5-fold cross-checking was used. For molecular docking, the following programs were used: for building 3D ligand models, Marvin software package from ChemAxon, preparation of protein 2MGY (Protein Data Bank) was performed in AutodockTools, and to establish the affinity of Autodock 4.2. In addition, a study was made of the hydrophobic correspondence in the PLATINUM web service. As a result of these studies, the most promising TSPO ligands were identified. Also, the structure–property relationship was evaluated.

Keywords: 18 kDa translocator protein TSPO; molecular docking; QSAR; neuropsychotropic activity

For citations:

Baraboshkin NM, Pantileev AS, Mokrov GV. Approaches to predict ligands affinity towards translocator protein TSPO 18 kDa in order to create molecules possessing neuropsychotropic activity. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;1:22–30. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10036.

Введение

Транслокаторный белок массой 18 кДа (TSPO) — это богатый триптофаном трансмембранный белок, состоящий из пяти α -спиралей. Он локализуется преимущественно на наружной митохондриальной мембране в стероид-синтезирующих тканях, включая ткани мозга. TSPO участвует в переносе холестерина из цитоплазмы на внутреннюю сторону митохондриальной мембраны, этот процесс является скоростью-лимитирующим фактором в синтезе стероидов и нейростероидов [1].

Лиганды, связывающиеся с активным центром TSPO, облегчают трансмембранный транспорт холестерина в митохондрию, который под воздействием ферментов трансформируется в нейростероиды. Последние аллостерически связываются с ГАМК_A рецептором, активируя ток анионов хлора внутрь клетки, что реализуется в дальнейшем в противотревожном эффекте [2].

На основании высокоаффинных синтетических лигандов (рис. 1) и данных, полученных нами ранее, была модифицирована известная фармакофорная модель TSPO-лигандов (рис. 2). Ядром лиганда должен являться плоский ароматический гетероцикл, в котором одно из положений замещено на ароматическое кольцо. Также в гетероцикле должна присутствовать амидная группа с липофильными заместителями, которая должна быть удалена от ядра не более чем на длину одной углерод-углеродной связи. Важно наличие карбонильной группы в липофильном фрагменте молекулы, она выступает в качестве акцептора водородной связи [3].

Несмотря на достаточно большое количество полученных лигандов TSPO, среди них (на 2018 год) нет зарегистрированных препаратов, за исключением препарата «Стрезам», однако он не одобрен FDA [14], кроме того, его механизм действия обусловлен не только взаимодействием с TSPO, но и прямым

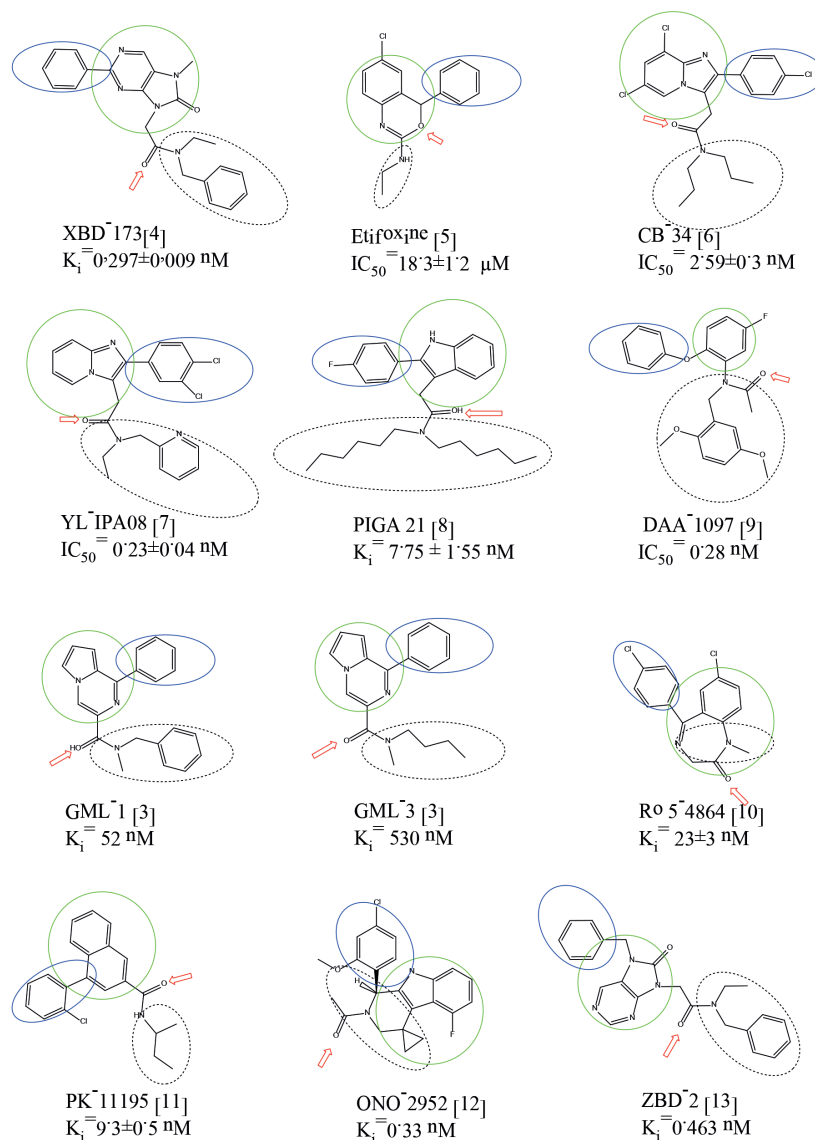


Рис. 1. Классические синтетические лиганды TSPO с экспериментальными константами ингибирования

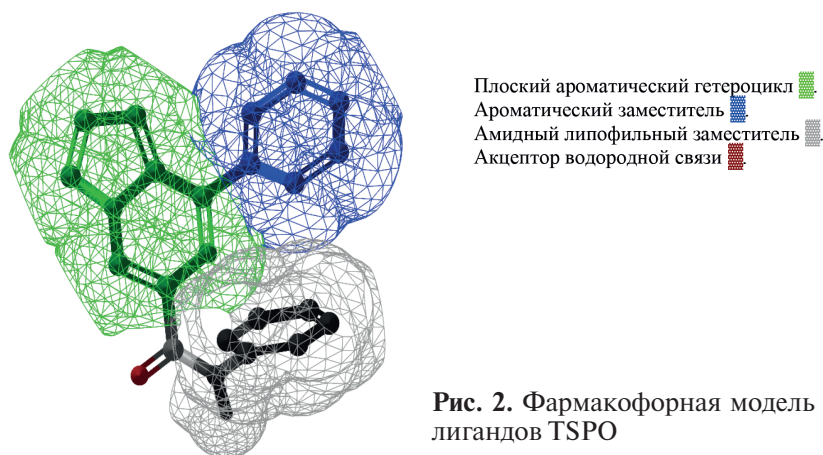


Рис. 2. Фармакофорная модель лигандов TSPO

связыванием с ГАМК_A рецептором. Таким образом, на сегодняшний день не найдено фармакологического решения задачи по созданию эффективных нейropsychотропных препаратов среди лигандов TSPO вследствие нежелательных побочных эффектов, недостаточной афинности к TSPO и токсичности большинства из них [15]. Вследствие этого актуальной задачей остаётся дальнейшая разработка лигандов TSPO, обладающих нейropsychотропной активностью, с отсутствием побочных эффектов и токсичности. Для решения данной проблемы в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был синтезирован ряд соединений на основе разработанной фармакофорной модели (см. рис. 2). В качестве основного гетероцикла был выбран пирроло[1,2-а]пиазин с фенильным кольцом в 1-м положении и наличием амидной группировки в 3-м положении (рис. 3). [3].

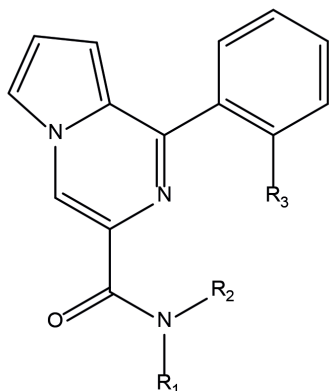


Рис. 3. Структура разработанного гетероциклического ядра и ряд полученных соединений

Шифр	R ₁	R ₂	R ₃
ГМЛ – 1	CH ₃	Bz	H
ГМЛ – 2	CH ₃	n-Bu	Cl
ГМЛ – 3	CH ₃	n-Bu	H
ГМЛ – 4	CH ₃	n-Bu	F
ГМЛ – 5	CH ₃	n-Bu	Br
ГМЛ – 6	CH ₃	втор-Bu	H
ГМЛ – 7	H	Bz	H
ГМЛ – 8	H	CH ₃	H
ГМЛ – 9	CH ₃	Bz	F
ГМЛ – 10	CH ₃	Bz	Cl
МЛ – 291	CH ₃	изо-Bu	H

Анализ связи структура-активность

С целью анализа прогностических возможностей метода QSAR и молекулярного докинга использовались как ранее синтезированные и изученные соединения, так и новые сконструированные молекулы. Вещества с шифром ГМЛ и МЛ были синтезированы нами ранее [3], для остальных указан порядковый номер.

На основе ранее изученных соединений анализ связи структура-активность [3] показал, что наибольшую активность проявляют соединения, у которых отсутствует заместитель в бензольном кольце (R₃ = H), а амидная группа замещена на метильную (R₁ = CH₃) и бензильную или н-бутильную группу (R₂ = Bz, n-Bu). Различные вариации ортозаместителя R₃ в бензольном кольце ГМЛ-2, ГМЛ-4, ГМЛ-5 при R₁ = CH₃, R₂ = n-Bu приводят к снижению активности. При введении фтора в положение R₃ активность снижается, а при введении брома и хлора полностью исчезает. Удаление одного из заместителей у амидной группы ГМЛ-7 и ГМЛ-8 R₁ или R₂ = H существенно снижает активность. Замена н-бутильного остатка на более разветвленный втор-бутил также снижает активность. В результате выделены основные перспективные соединения ГМЛ-1 и ГМЛ-3, у которых отсутствует заместитель в положении R₃, а амидная группа замещена по обоим атомам водорода.

Одним из ключевых параметров лигандов TSPO, определяющих их биологическую активность, является их афинность по отношению к этому рецептору. На основании анализа связи структура-активность разработан ряд модифицированных лигандов в ряду пирроло[1,2-а]пиазинов и проведён прогноз сродства с использованием QSAR и метода молекулярного докинга.

QSAR/QSPR — метод измерения количественной связи между структурой молекулы и её свойством, в нашем случае активностью. Методы QSAR появились в начале 1960-х и их основателем был Корвин Ганч. Основное применение QSAR моделей — прогноз биологической активности для химических соединений [16]. Для числового обозначения молекулы используют независимые друг от друга числовые параметры молекулы — дескрипторы. [17]

Топологические методы QSAR используют информацию о атомах и типах связи между ними, а также другие локальные дескрипторы (липофильность, константы заместителей, дипольный момент и др.) Структурная формула молекул записывается в виде молекулярного графа, где атомы — это вершины, а ребра — это связи между атомами. Однако топологический подход не позволяет учитывать информацию о взаимном расположении структурных особенностей в пространстве и такие методы не могут быть универсальным инструментом прогнозирования физиологической активности.

Для построения QSAR моделей формируется обучающая и тестовая выборка из молекул, для которых заранее известна биологическая активность. Обучающая выборка загружается в компьютерную программу, которая проводит подбор дескрипторов и строит зависимость как:

$$A = f(D), \text{ где}$$

A — активность,
D — дескриптор.

На основе обучающей выборки строится корреляционное уравнение активности от набора дескрипторов. Модель проверяется с помощью тестовой выборки, в которой активность молекул уже известна. Таким образом, модель связывает активность с определенными фрагментами в молекуле и их окружением. Точность модели зависит от размера обучающей выборки и оптимального набора дескрипторов [18].

Для прогнозирования аффинности лигандов к TSPO построена QSAR модель на основе обучающей выборки из 1 297 лигандов TSPO с известной константой ингибирования. Первоначально осуществляли поиск лигандов TSPO с известными константами ингибирования в базе данных химических структур ZINC [19]. Полученную базу в формате sdf загрузили в веб-сервис для QSAR моделирования — OCHEM [20]. Было создано 9 моделей из комбинации трёх методов машинного обучения (ASNN, FSMLR, PLS) с различным набором 2D фрагментарных дескрипторов (OEState, ISIDA, GSfrag). Для валидации модели использовался 5-кратный перекрёстный контроль (табл. 1).

В результате была выбрана модель на основе искусственных нейронных сетей от фрагментарных дескрипторов ISIDA с коэффициентом корреляции

$R_2 = 0,68$ (Таблица и параметром перекрёстного контроля $q^2 = 0,65$. Для промежуточной оценки модели использовали значение RMSE (root mean square derivative) среднеквадратичного отклонения и параметра перекрёстного контроля Q^2 (рис. 4).

Фрагментарные дескрипторы ISIDA базируются на двух классах дескрипторов: подструктурные молекулярные фрагменты и фармакофорные триплеты. Первые разбиты на три класса:

1. Последовательность соединённых атомов и связей.
2. Только атомы или пары атомов.
3. Расширенный набор атомов с близкой средой и их связей.

Фармакофорные триплеты производят поиск и выделение определённых фармакофорных фрагментов (Н-доноры, Н-акцепторы, анионы, катионы и т. д.) на заданных топологических расстояниях.

В результате были получены прогнозируемые значения аффинности для 22 структур с различными заместителями у амидной группы (табл. 2).

Таблица 2

Прогнозируемая аффинность пирроло[1,2-а]пиазинов

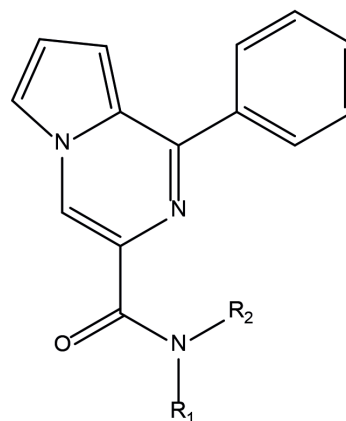


Таблица 1

Статистические показатели построенных моделей

R^2	ASNN	FSMLR	PLS
ALogPS, OEstate	0,62	0,32	0,41
Fragmentor (Length 2–4)	0,68	0,41	0,5
GSfrag	0,67	0,22	0,33
Q^2	ASNN	FSMLR	PLS
ALogPS, OEstate	0,6	0,24	0,39
Fragmentor (Length 2–4)	0,65	0,4	0,48
GSfrag	0,64	0	0,32

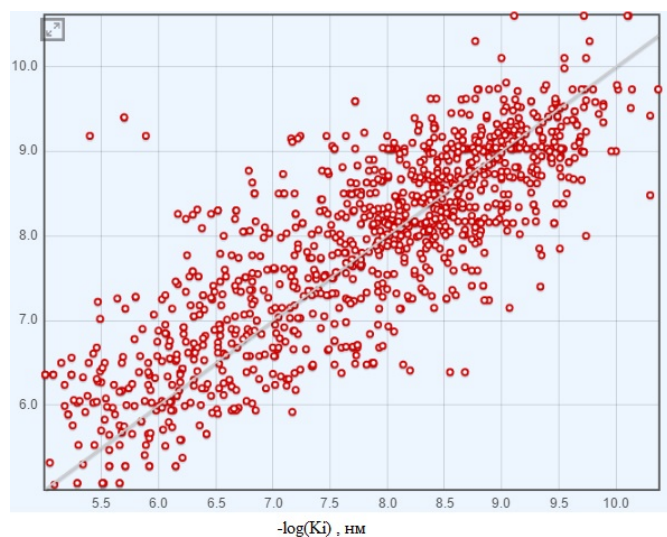


Рис. 4. Графическое отображение модели от фрагментарных дескрипторов ISIDA

№	R ₁	R ₂	K _i , -log(M)	№	R ₁	R ₂	K _i , -log(M)
ГМЛ-8	Me	H	5,3	ГМЛ-23	Ph	n-Bu	6,2
1	Et	Et	5,5	ГМЛ-1	Bz	Me	6,9
ГМЛ-12	Pr	Pr	6	4	Bz	Et	5,7
ГМЛ-3	Me	n-Bu	6	5	Bz	n-Bu	6,2
МЛ-291	Me	i-Bu	6	6	Bz	i-Pr	5,4
ГМЛ-6	Me	sec-Bu	6,4	7	Bz	Bz	5,5
2	циклогексил		5,1	ГМЛ-11	Ph	Bz	5,8
ГМЛ-7	Bz	H	5,2	8	Ph	Ph	6,1
ГМЛ-22	Ph	Et	5,7	9	Ph	циклогексил	5,2
3	Ph	Pr	6,1	10	Ph	циклопентил	5,6
ГМЛ-21	Ph	Me	6,4	11	Naph	H	5,6

Молекулярный докинг

Молекулярный докинг — это метод моделирования, который позволяет предсказать наиболее выгодную для образования устойчивого комплекса ориентацию и положение одной молекулы по отношению к другой. В данной статье мы использовали метод взаимодействия лиганд-рецептор. Сначала выбрали рецептор с нативным лигандом в PDB и выполнили подготовительные преобразования, затем взяли как ранее синтезированные и изученные лиганды, так и сконструировали несуществующие, но легко синтезируемые по отработанной методике. Для построения 3D моделей молекул была выбрана программа MarvinSketch, входящая в программный пакет Marvin от компании ChemAxon. Рецептор TSPO домовой мыши был взят из PDB (protein data bank) шифр 2MGY [21]. Данный белок получен путём экспрессии ДНК-последовательности TSPO мыши в кишечной палочке. Аминокислотная последовательность транслокаторного белка человека от белка мыши отличается наличием полиморфизма генов rs6971 у человека. Этот однонуклеотидный полиморфизм заключается в замене аланина в 147-м положении на треонин [22].

Предварительно в программе AutoDockTools [23] в структуру рецептора добавили водороды, удалили нативный лиганд PK 11195 и посчитали заряд по методу Gaisteger [24]. Аналогичную процедуру проводили с лигандами. Затем нами были построены

электростатические решетки для N-терминального кармана связывания. Молекулярный докинг проводили с помощью программы AutoDock 4.2. Конформационный поиск в активном центре выполнялся по генетическому алгоритму.

Для проверки правильности подсчёта скоринг-функции проводили докинг с 4 известными высоко-аффинными лигандами транслокаторного белка (табл. 3).

После проведения проверки приступили к основной процедуре докирования. Аффинность лигандов к TSPO колебалась от мкМ до нМ значений. Наилучшие K_i наблюдали для соединений 6, 7, 8, ГМЛ-11, 11 (табл. 4).

Дальнейшему анализу подвергали самые аффинные соединения 6, 7, 8, ГМЛ-11, 11 и соединения с Clog P < 4,5: ГМЛ-21, ГМЛ-22, ГМЛ-1, 4. В результате докинга определилось два основных мотива связывания.

В одном мотиве пирролопипазиновый остов наиболее аффинных соединений ГМЛ 11 и 8 гидрофобно взаимодействует с ароматическими остатками триптофана (95, 107), аланина (110, 147) и лейцина 150, а липофильные заместители амидной группы — с лейцином 150, серином 41, триптофаном 143, изолейцином 52. Фенильное кольцо у гетероароматического остова располагается около двух остатков триптофана 53 и 95 (рис. 5). Соединение ГМЛ 22 имеет похожий мотив связывания, однако фенильное кольцо в гетероцикле несколько сдвинуто к остатку триптофана 143 (см. рис. 5), в отличие от соединений ГМЛ-11 и 8, которые не могут сдвинуться из-за наличия объёмных заместителей у амидной группы.

Альтернативный мотив связывания предсказан для структур ГМЛ-21, ГМЛ-1, 4, 6, 11. В отличие от соединений ГМЛ-22, ГМЛ-11, 8 гетероциклический остов молекул ГМЛ-1 и 7 (Рис. 6) взаимодействует с остатками триптофана (53, 143), изолейцина 52 и аланина 23. Однако у соединений ГМЛ-21, 4, 11 фенильное кольцо сдвигается в сторону стэкинг взаи-

Таблица 3

Значения скоринг функции AutoDock классических лигандов TSPO и ГМЛ-1

Название лиганда	G score
DAA1097	-10,3
FIGN1-27	-9,1
PBR28	-10,6
XBD-173	-10,9
ГМЛ-1	-10,2

Значения аффинности для ряда лигандов пирроло[1,2-а]пипазинов

№	R1	R2	Ki, nM	Clog P	№	R1	R2	Ki, nM	Clog P
ГМЛ-8	Me	H	3610	1,89	ГМЛ-23	Ph	n-Bu	29	5,09
1	Et	Et	1910	2,82	ГМЛ-1	Bz	Me	38	3,83
ГМЛ-12	Pr	Pr	1490	3,87	4	Bz	Et	71	4,19
ГМЛ-3	Me	n-Bu	1220	3,43	5	Bz	n-Bu	26	5,16
МЛ-291	Me	i-Bu	810	3,35	6	Bz	i-Pr	11	4,61
ГМЛ-6	Me	sec-Bu	715	3,4	7	Bz	Bz	9	5,56
2	цикло	гексил	183	2,96	ГМЛ-11	Ph	Bz	4	5,49
ГМЛ-7	Bz	H	213	3,61	8	Ph	Ph	6	5,42
ГМЛ-21	Ph	Me	134	3,77	11	Naph	H	10	4,89
ГМЛ-22	Ph	Et	58	4,12	9	Ph	циклогексил	41	5,57
3	Ph	Pr	50	4,65	10	Ph	циклопентил	14	5,48

Таблица 4

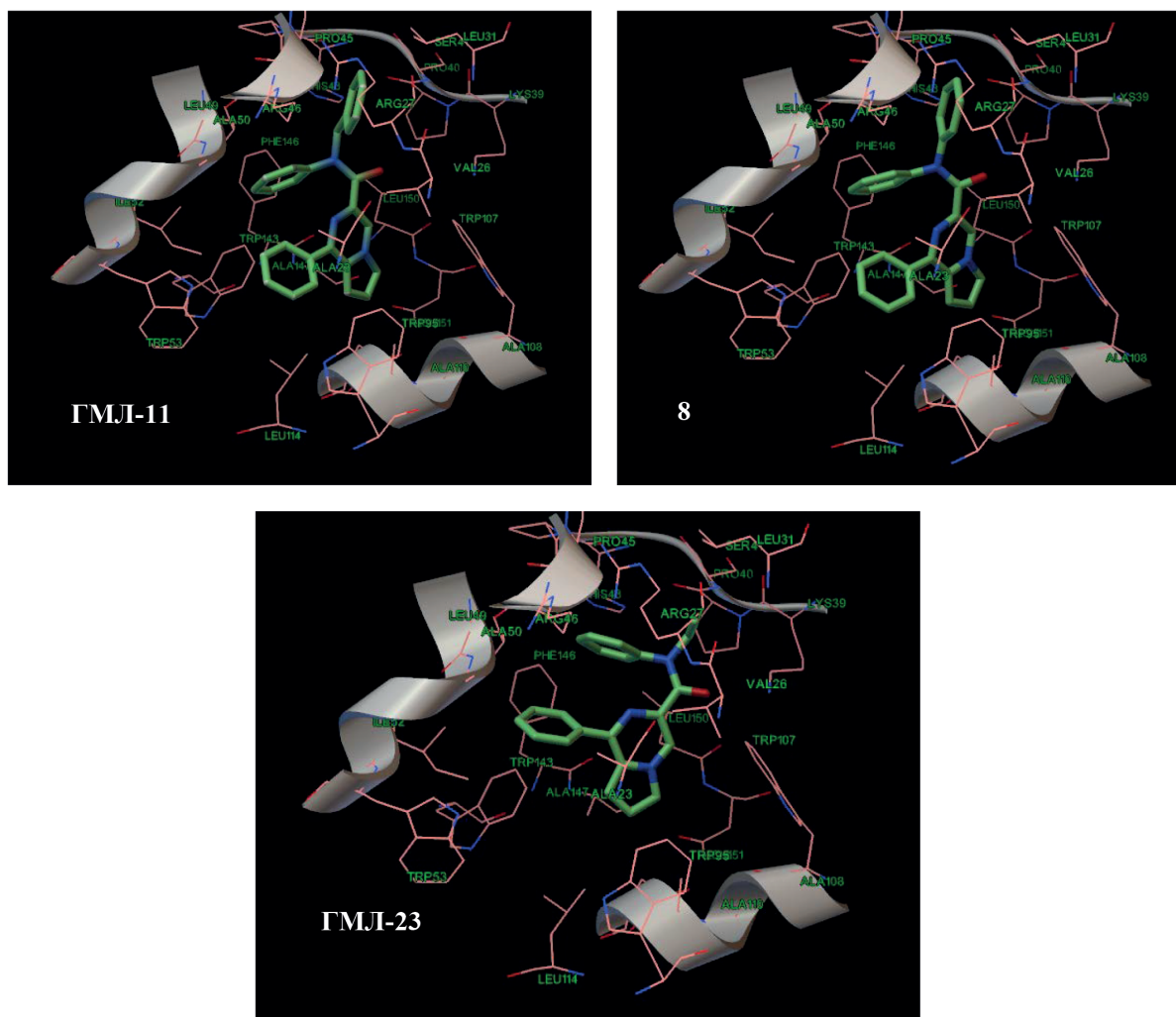


Рис. 5. Положение соединений ГМЛ-11, 8 и ГМЛ-23 в сайте связывания РК 11195 белка TSPO (protein data bank: 2MGY)

модействия с триптофаном 107, что в итоге сдвигает пирролопиразинный цикл к остатку триптофана 95 и лейцина 114 (рис. 6). У амидного атома азота соединений ГМЛ-1 и 7 положения бензильной группы совпадают, а насыщенные атомы углерода направлены к лейцину 49. Этильный радикал у амидного азота соединения 4 также направлен к лейцину 49, а бензильная группа — к валину 26. Соединение ГМЛ-21 тоже несколько сдвинуто по метильному радикалу к остатку лейцина 49. Нафтильная группа в соединении 11 имеет дополнительную область связывания с валином 26, лейцином 31, серином 41 и аргинином 46. Таким образом, введение электроноакцепторной группы в паразоложение фенильного кольца у атома амидного азота может увеличить сродство к TSPO.

По причине того, что карман активного центра РК-11195 достаточно гидрофобен, проведён анализ соответствия гидрофобной поверхности лиганда к поверхности белка с помощью веб-сервиса PLATINUM. В этом веб-сервисе проводятся вычисления, основанные на концепции молекулярного гидрофобного

потенциала, который присваивается каждому атому в зависимости от его природы. Затем проводится анализ поверхности молекулы лиганда и его окрестностей. Результат — это число, полученное при делении гидрофобно комплементарной поверхности лиганда к белку на общую поверхность лиганда. Также на основе эмпирических функций ведётся учёт π – π стэкинговых взаимодействий между ароматическими остатками аминокислот и ароматическими фрагментами лигандов. Результаты исследуемых структур сравнивали с результатами классического лиганда TSPO РК-11195 (табл. 5).

В итоге вышеперечисленных прогнозов, принимая во внимание коэффициент clogP и результаты соответствия гидрофобных поверхностей. Соединения ГМЛ-23, 5, 7, ГМЛ-11, 8 не подходят к правилу Липински $\text{clogP} < 5$ [25]. Оптимальные значения $\log P$ для проникновения через гематоэнцефалический барьер лежат в интервале 1,5–2,7 [26]. Таким образом, перспективными соединениями, учитывая липофильность, аффинность и гидрофобный потенциал, стали соединения ГМЛ-21, ГМЛ-22, ГМЛ-1, 4.



Таблица 5

Результаты проверки гидрофобного соответствия
в веб-сервисе PLATINUM

Номер молекулы	$\pi - \pi$ стэкинг	Соответствие
ГМЛ-21	1,65	0,8859
ГМЛ-22	0,87	0,9459
ГМЛ-1	2,42	0,9139
4	2,03	0,9371
7	1,78	0,8971
ГМЛ-11	0,71	0,9235
8	0,95	0,9339
11	1,76	0,8701
РК-11195	1,97	0,9609

Выводы

В результате данной работы были спрогнозированы перспективные соединения — лиганды транслокаторного белка. Часть соединений в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова уже была изучена ранее и была включена в выборку для проверки методов молекулярного моделирования (табл. 6).

Таблица 6

Результаты молекулярного моделирования и эксперимента

№	Соответствие правилу Липнински	Активность <i>in vivo</i>	Кіэксп, нМ
ГМЛ-23	—	—	нет данных
5	—	нет данных	нет данных
7	—	нет данных	нет данных
ГМЛ-11	—	++	нет данных
8	—	нет данных	нет данных
ГМЛ-21	+	+	нет данных
ГМЛ-22	+	+	нет данных
ГМЛ-1	+	+	80
4	+	нет данных	нет данных

Расчётные данные для ГМЛ-21, ГМЛ-22, ГМЛ-23, ГМЛ-1 соотносятся с результатами эксперимента, кроме ГМЛ-11, который проявил анксиолитическую активность, несмотря на несоответствие правилу Липнински.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пантилеев Андрей Сергеевич
Автор, ответственный за переписку
e-mail: and.pantileev@academpharm.ru
ORCID 0000-0001-9288-594X
SPIN-код: 4356-7680
м. н. с. ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Мокров Григорий Владимирович
ORCID 0000-0003-2617-0334
SPIN-код: 8755-7666
к. х. н., и. о., в. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Барабоскин Никита Михайлович
ORCID 0000-0001-9288-594X
Студент РХТУ им. Менделеева

Pantileev Andrey
Corresponding author
e-mail: and.pantileev@academpharm.ru
ORCID 0000-0001-9288-594X
SPIN-code: 4356-7680
junior researcher FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Mokrov Grigory
ORCID 0000-0003-2617-0334
SPIN-code: 8755-7666
PhD, Acting leading researcher of the fine organic synthesis laboratory at the drug chemistry department FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Baraboshkin Nikita
ORCID 0000-0001-9288-594X
Student D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia

Литература / References

1. Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, et al. Translocator protein (18 kDa)(TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nature reviews Drug discovery*. 2010;9(12):971. URL: <https://doi.org/10.1038/nrd3295>.
2. Rone MB, Fan J, et al. Cholesterol transport in steroid biosynthesis: role of protein–protein interactions and implications in disease states. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2009;1791(7):646–658. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.03.001>.
3. Mokrov GV, Deeva OA, Gudasheva TA, et al. Design, synthesis and anxiolytic-like activity of 1-arylpyrrolo [1, 2-a] pyrazine-3-carboxamides. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2005;23(13):3368–3378. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.049>.
4. Verma A, Nye JS, Snyder SH. Porphyrins are endogenous ligands for the mitochondrial (peripheral-type) benzodiazepine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987;84(8):2256–2260. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.84.8.2256>.
5. Verleye M, Akwa Y, Liere P, et al. The anxiolytic etifoxine activates the peripheral benzodiazepine receptor and increases the neurosteroid levels in rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2005;82(4):712–720. URL: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.11.013>.
6. Serra M, Madau P, Chessa MF, et al. 2 Phenyl imidazo [1, 2 a] pyridine derivatives as ligands for peripheral benzodiazepine receptors: stimulation of neurosteroid synthesis and anticonflict action in rats. *British journal of pharmacology*. 1999;127(1):177–187. URL: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702530>.
7. Zhang LM, Zhao N, Guo WZ, et al. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa). *Neuropharmacology*. 2014; 81:116–125. URL: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.09.016>.
8. Da Settimo F, Simorini F, Taliani S, et al. Anxiolytic-like effects of N, N-dialkyl-2-phenylindol-3-ylglyoxylamides by modulation of translocator protein promoting neurosteroid biosynthesis. *Journal of medicinal chemistry*. 2008;51(18):5798–5806. URL: <https://doi.org/10.1021/jm8003224>.
9. Okuyama S, Chaki S, Yoshikawa R, et al. Neuropharmacological profile of peripheral benzodiazepine receptor agonists, DAA1097 and DAA1106. *Life sciences*. 1999;64(16):1455–1464. URL: [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00079-X).
10. Gavioli EC, Duarte FS, Bressan, E, et al. Antidepressant-like effect of Ro5-4864, a peripheral-type benzodiazepine receptor ligand, in forced swimming test. *European journal of pharmacology*. 2003;471(1):21–26. URL: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01789-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01789-8).
11. Ryu, JK, Choi HB, et al. Peripheral benzodiazepine receptor ligand PK11195 reduces microglial activation and neuronal death in quinolinic acid-injected rat striatum. *Neurobiology of disease*. 2005;20(2):550–561. URL: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.04.010>.
12. Mitsui K, Niwa T, Kawahara Y, et al. Anti-stress effects of ONO-2952, a novel translocator protein 18 kDa antagonist, in rats. *Neuropharmacology*. 2015;99:51–66. URL: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.07.011>.
13. Li XB, Guo HL, Shi TY, et al. Neuroprotective effects of a novel translocator protein (18 kDa) ligand, ZBD 2, against focal cerebral ischemia and NMDA induced neurotoxicity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2015;42(10):1068–1074. URL: <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12460>.
14. URL: <https://www.fda.gov/>
15. Hamon A, Morel A, Hue B, et al. The modulatory effects of the anxiolytic etifoxine on GABAA receptors are mediated by the $\alpha 5$ subunit. *Neuropharmacology*. 2003;45(3):293–303. URL: [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(03\)00187-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(03)00187-4).
16. Free SM, et al. A mathematical contribution to structure-activity studies. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1964;7(4):395–399. URL: <https://doi.org/10.1021/jm00334a001>.
17. Mitra I, Saha A, et al. Predictive modeling of antioxidant coumarin derivatives using multiple approaches: descriptor-based QSAR, 3D-pharmacophore mapping, and HQSAR. *Scientia pharmaceutica*. 2002;81(1):57–80. URL: <https://doi.org/10.3797/scipharm.1208-01>.
18. Gramatica P. Principles of QSAR models validation: internal and external. *QSAR & combinatorial science*. 2007;26(5):694–701. URL: <https://doi.org/10.1002/qsar.200610151>.
19. Irwin JJ, Sterling T, Mysinger MM, et al. ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. *Journal of chemical information and modeling*. 2012;52(7):1757–1768. URL: <https://doi.org/10.1021/ci3001277>.
20. Sushko I, Novotarskyi S, Kerner R, et al. Online chemical modeling environment (OCHEM): web platform for data storage, model development and publishing of chemical information. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2011;25(6):533–554. URL: <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9440-2>.
21. Jaremko Ł, Jaremko M, Giller K, et al. Structure of the mitochondrial translocator protein in complex with a diagnostic ligand. *Science*. 2014;343(6177):1363–1366. URL: <https://doi.org/10.1126/science.1248725>.
22. Kreisl WC, Jenko K J, Hines CS, et al. A genetic polymorphism for translocator protein 18 kDa affects both in vitro and in vivo radioligand binding in human brain to this putative biomarker of neuroinflammation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2013;33(1):53–58. URL: <https://doi.org/10.1038%2Fjcbfm.2012.131>.
23. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*. 2009;30(16):2785–2791. URL: <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
24. Gasteiger, J., & Marsili, M. (1980). Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, 36(22), 3219–3228. URL: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(80\)80168-2](https://doi.org/10.1016/0040-4020(80)80168-2).
25. Lipinski CA. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2004;1(4):337–341. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
26. Hansch C, Rockwell SD, Jow PY, et al. Substituent constants for correlation analysis. *Journal of medicinal chemistry*. 1977;20(2):304–306. URL: <https://doi.org/10.1021/jm00212a024>.